

**DAYA HAMBAT FRAKSI SEMIPOLAR EKSTRAK
ETANOL DAUN BENALU MANGGA (*Dendrophthoe
petandra* (L.) Miq.) TERHADAP PERTUMBUHAN
Escherichia coli SERTA *Brine Shrimp Lethality Test***

SKRIPSI



Oleh :

**FAIRUS ZABADI
K100070134**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2011**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tanaman benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.). Benalu yang pada awalnya dianggap tidak bermanfaat dan cenderung merugikan ternyata memiliki beberapa potensi sebagai agen terapeutik. Berbagai penelitian telah dilakukan dalam rangka mengeksplorasi pemanfaatan benalu sebagai tumbuhan yang bermanfaat dalam pengobatan penyakit tertentu.

Menurut Osadebe dan Akabogu (2005), ekstrak etanol dan petroleum eter *Loranthus micranthus* yang memiliki kesamaan famili dengan benalu mangga (Loranthaceae) telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba. Ekstrak etanol *Loranthus micranthus* memiliki aktivitas antibakteri sedangkan ekstrak petroleum eter memiliki aktivitas antijamur yang baik.

Beberapa spesies dari famili Loranthaceae telah dilaporkan memiliki efek respon imunobiologi (Fernandez *et al.*, 2003), antikanker (Ohashi *et al.*, 2003), dan antikonvulsan (Amabeoku *et al.*, 1998). Secara spesifik isolat flavonoid pada herba benalu mangga dengan dosis 2,44 mg/0,2 mL mampu menghambat pertumbuhan kanker pada mencit yang diinduksi dengan benzo(a)piren ($p < 0,05$) (Sukardiman dan Rahmadany, 1999). Pada penelitian lain, diketahui kandungan kimia dalam ekstrak air benalu mangga adalah flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid, dan saponin. Uji ketoksikan akut juga dilakukan pada ekstrak air benalu mangga dan tidak diperoleh dosis yang menyebabkan kematian

hewan uji sehingga hanya ditemukan LD₅₀ semu untuk mencit sebesar 16,0962 g/kgBB (Khakim, 2000).

Darmawan *et al.* (2004) menyatakan bahwa dari lima jenis benalu yang telah diteliti, jenis benalu *Scurulla* sp. dan *Dendrophthoe petandra* memberikan hasil aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dengan IC₅₀ sebesar 26,7 dan 23,9 ppm, sementara benalu *Dendrophthoe umbellata* dan *Macrosolen cochinchinensis* juga mempunyai aktivitas antioksidan yang cukup aktif dengan nilai IC₅₀ sebesar 66,8 dan 62,9 ppm, sedangkan benalu *Helixanthera setigera* mempunyai aktivitas antioksidan rendah. Dalam benalu mangga, kemungkinan senyawa aktif yang menyebabkan aktivitas antioksidan adalah kuersetin. Menurut Pelczar dan Chan (1988), kuersetin juga dapat bertindak sebagai antibakteri karena adanya gugus fenol yang akan mendenaturasi protein dan merusak membran sel mikroba. Dari hasil penelitian, diketahui bahwa isolat benalu mangga mengandung golongan steroid (β -sitosterol) dan flavonoid (kuersetin) (Katrin *et al.*, 2005).

Adanya berbagai penelitian yang telah dilakukan tentang aktivitas benalu mangga dan adanya senyawa marker keluarga Loranthaceae berupa kuersetin mendasari dilakukannya penelitian terhadap daya hambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Selain itu dalam penelitian ini dilakukan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach sebagai skrining awal senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas perumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Bagaimana daya hambat fraksi semipolar ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan berapa diameter zona hambatnya?
2. Apakah fraksi semipolar ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) memiliki toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui daya hambat fraksi semipolar ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan berapa diameter zona hambatnya.
2. Mengetahui toksisitas fraksi semipolar ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) terhadap *Artemia salina* Leach.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.)

a. Sistematika tanaman

Salah satu spesies benalu dari keluarga Loranthaceae adalah *Dendrophthoe petandra*, berikut sistematika benalu mangga:

Divisi : [Tracheophyta](#)

Subdivisi : [Euphylllophytina](#)

Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Bangsa	: Santalales
Keluarga	: Loranthaceae
Genus	: Dendrophthoe
Spesies	: <i>Dendrophthoe petandra</i> (L.) Miq. (Van Steenis, 1975)

b. Kandungan kimia

Benalu mangga secara umum mengandung flavonoid kuersetin, meso-inositol, rutin, dan tanin (Ikawati *et al.*, 2008). Dari hasil penelitian, diketahui bahwa isolat benalu mangga mengandung golongan steroid (β -sitosterol) dan flavonoid (kuersetin) (Katrin *et al.*, 2005).

c. Manfaat tanaman

Berdasarkan pengalaman, benalu telah digunakan dalam pengobatan tradisional. Benalu pada umumnya digunakan sebagai obat campak dan ramuan obat untuk penyakit amandel. Air rebusan herba benalu mangga dapat digunakan sebagai antihipertensi dan obat batuk (Uji *et al.*, 2006). Selain itu, benalu mangga juga digunakan sebagai obat kanker (Purnomo, 2000). Sedangkan untuk penggunaan topikal, daun benalu mangga yang telah dihaluskan dapat digunakan untuk mengobati luka pedih, bernanah, dan infeksi pada kulit (Uji *et al.*, 2007).

2. Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang telah dipilih sehingga zat yang diinginkan terlarut. Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang ada dalam simplisia terdapat dalam bentuk yang mempunyai kadar yang tinggi (Anief, 2000).

Cara penyarian dapat dibedakan menjadi beberapa cara antara lain infundasi, maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Secara umum penyarian akan bertambah baik apabila permukaan simplisia yang bersentuhan dengan pelarut semakin luas (Anonim, 1986). Metode penyarian yang akan digunakan tergantung dari wujud dan kandungan bahan yang akan disari. Selain itu, pemilihan metode penyarian disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh kandungan kimia yang diinginkan (Harborne, 1996).

Maserasi merupakan proses penyarian yang paling sederhana dan banyak digunakan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan-bahan tumbuhan yang telah dihaluskan dalam pelarut terpilih dan disimpan dalam waktu tertentu dalam ruang yang gelap serta sesekali diaduk. Keuntungan metode ini yaitu cara pengerjaannya mudah, alat yang digunakan sederhana dan cocok untuk bahan yang tidak tahan pemanasan. Di sisi lain, metode ini memiliki kelemahan yaitu dibutuhkan pelarut yang cukup banyak (Anonim, 1986).

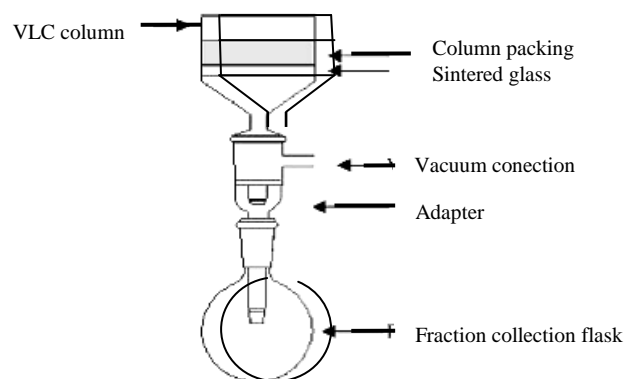
3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Salah satu metode yang dapat

digunakan adalah Kromatografi Cair Vakum (KCV). Prinsip dasar kromatografi cair vakum ini adalah pemisahan secara adsorpsi yang dipercepat dengan bantuan pompa vakum (Hostettman *et al.*, 1995).

Kelebihan kromatografi cair vakum dibandingkan dengan kromatografi konvensional adalah dapat dilakukan dengan jumlah ekstrak dalam skala besar dan dalam waktu yang singkat. Sedangkan kekurangan metode kromatografi cair vakum terletak pada jenis fase gerak yang digunakan. Pada metode ini, perlu pemilihan pelarut yang sesuai untuk mencegah terjadinya penguapan pelarut selama proses fraksinasi berlangsung (Hostettman *et al.*, 1995).

Kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kemasan rapat yang maksimal, kolom yang telah dijenuhi, dihisap sampai kering. Cuplikan dialiri dengan pelarut yang sesuai, mulai pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolarannya ditingkatkan perlahan-lahan (Hostettman *et al.*, 1995). Rangkaian alat kromatografi cair vakum dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rangkaian Alat Kromatografi Cair Vakum (KCV).

4. *Escherichia coli*

a. Sistematika *E. coli*

Sistematika *E. Coli* adalah sebagai berikut:

Divisio : Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Salle, 1961)

b. Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri berbentuk batang pendek, Gram negatif, fakultatif anaerobik, tidak berspora, dan berukuran antara 0,4-0,7 μm x 1,4 μm . *E. coli* dapat memproduksi enzim yang dapat mengkatalisis pembentukan polinukleotida yang sama atau identik dengan DNA yang diisolasi dari alam (Jawetz *et al.*, 2005).

c. Habitat dan kondisi pertumbuhan

Pada umumnya, *Escherichia coli* hidup di dalam saluran pencernaan manusia sebagai flora normal. *E. coli* seperti Gram negatif lainnya dapat mensintesis semua asam amino yang dibutuhkan (Jawetz *et al.*, 2005). Selain itu, *E. coli* diduga membantu pembuatan vitamin K yang penting untuk pembekuan darah dan dapat digunakan sebagai indikator pencemaran feses pada sumber air (Entjang, 2003).

d. Patogenesis

Menurut Jawetz *et al.* (2005), manifestasi klinis infeksi oleh *E. coli* bergantung pada tempat infeksi. Beberapa penyakit klinik yang disebabkan oleh *E. coli* adalah infeksi saluran kemih, diare, sepsis, dan meningitis. Pelczar dan Chan (1988) menjelaskan bahwa *E. coli* yang menyebabkan diare akut dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori yaitu *enterohepatogenik*, *enteroinvasif*, dan *enterotoksigenik*.

5. Uji aktivitas antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu:

a. Agar difusi

Pada metode agar difusi, media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Pada metode difusi ini ada beberapa cara, yaitu:

1) Cara Kirby Bauer

Prinsip dasar metode ini adalah terjadinya difusi antara sampel yang terdapat pada kertas samir (*disk*) dengan media yang terinokulasi. Kapas lidi yang telah dicelupkan ke dalam suspensi bakteri dengan kekeruhan tertentu dioleskan pada permukaan media. Kemudian *disk* yang mengandung antibakteri diletakkan di atasnya. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca:

(a) Zona radikal yaitu suatu daerah di sekitar *disk* yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.

(b) Zona irradikal yaitu suatu daerah di sekitar *disk* yang pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak dimatikan.

2) Cara Sumuran

Pada metode ini, media agar yang telah diinokulasi bakteri dibuat sumuran. Kemudian ditetesi antibakteri. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Pembacaan hasil dilakukan seperti pada Kirby Bauer.

3) Cara *Pour Plate*

Berbeda dengan metode Kirby Bauer dan sumuran, pada metode ini suspensi bakteri yang telah memiliki kekeruhan setara dengan standar Mc. Farland dicampur ke dalam 4 mL agar base 1,5% dengan suhu sekitar 50°C. Suspensi kuman yang telah homogen dituang pada media agar Mueller Hinton. *Disk* diletakkan di atas media dengan suspensi bakteri yang telah memadat. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi 15-20 jam pada suhu 37°C.

b. Dilusi cair dan dilusi padat

Metode dilusi adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Pada prinsipnya sampel antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi sampel antibakteri ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar kemudian ditanami bakteri (Anonim, 1993).

6. Toksisitas

Toksisitas merupakan sifat relatif yang digunakan untuk menunjukkan suatu efek berbahaya atas jaringan biologi tertentu (Loomis, 1978). Metode uji toksisitas dibagi menjadi dua golongan. Golongan pertama yaitu uji toksisitas yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan eksperimental. Termasuk dalam uji ini adalah uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis. Golongan kedua yaitu uji toksisitas yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas spesifik. Uji toksisitas spesifik meliputi uji mutagenik, uji karsinogenik, uji teratogenik, uji reproduksi, uji potensi, dan uji perilaku (Loomis, 1978).

Uji toksisitas akut yaitu uji toksisitas dengan pemberian suatu senyawa kepada hewan uji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam. Tujuan dilakukannya uji tersebut adalah menentukan tingkatan letalitasnya (Lu, 1995). Penggolongan toksisitas berdasarkan nilai LD_{50} dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Penggolongan Toksisitas Berdasarkan Nilai LD_{50} (Lu, 1995)

Kategori	Nilai LD_{50}
Supertoksik	1 mg/kg atau kurang
Amat toksik	1-50 mg/kg
Sangat toksik	50-500 mg/kg
Toksik sedang	0,5-5 g/kg
Toksik ringan	5-15 g/kg
Praktis tidak toksik	Lebih dari 15 g/kg

Penggolongan ini berlaku untuk harga LD_{50} pada hewan percobaan, untuk

harga LC_{50} hanya dibedakan menjadi:

- a. Toksik ($LC_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$)

- b. Tidak toksik (LC₅₀ ≥ 1000 µg/mL) (Meyer *et al.*, 1982 *cit* Wahyuni, 2003).

7. *Artemia salina* Leach

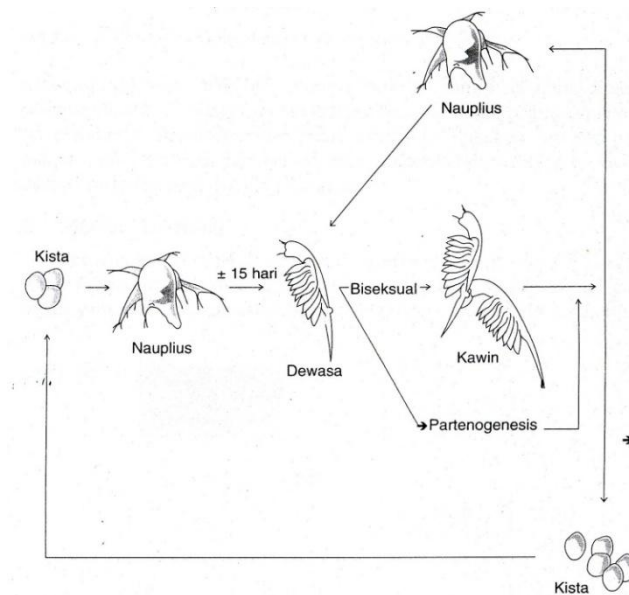
a. Klasifikasi *Artemia salina* Leach.

Artemia merupakan bangsa udang-udangan yang diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustaceae
Bangsa	: Anostraca
Keluarga	: Artemida
Genus	: Artemia
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach (Harefa, 2003)

b. Morfologi

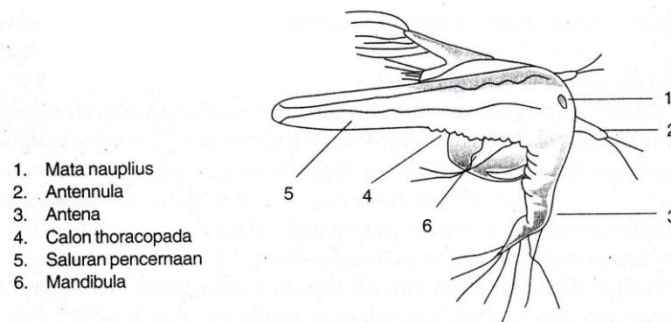
Artemia pada umumnya dijual dalam bentuk kista (telur istirahat). Kista ini apabila dilihat dengan mata telanjang berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter berkisar antara 200-350 mikron. Satu gram kista *Artemia* kering rata-rata mengandung 200.000-300.000 butir kista (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995). Siklus hidup *Artemia salina* L. dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Siklus Hidup *Artemia salina* L.

Ada tiga tahapan proses penetasan *Artemia* yaitu tahap hidrasi, tahap pecahnya cangkang, dan tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut menjadi bulat dan aktif melakukan metabolisme. Tahap selanjutnya adalah tahap pecahnya cangkang dan diikuti dengan tahap pengeluaran yang terjadi beberapa saat sebelum *nauplius* keluar dari cangkang (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995).

Larva *Artemia* yang baru menetas disebut *nauplius*. *Nauplius* berwarna oranye, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0,002 mg. *Nauplius* mempunyai sepasang antenulla dan sepasang antenna. Selain itu, di antara antenulla terdapat bintik mata yang disebut ocellus. Sepasang mandibula terdapat di belakang antenna. Sedangkan labrum (Semacam mulut) terdapat di bagian ventral (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995). Morfologi nauplius pada *Artemia salina* L. dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi Nauplius pada *Artemia salina* L.

c. Lingkungan hidup

Artemia hidup secara plantonik di perairan laut yang kadar garamnya berkisar antara 19-300 per mil dan suhunya berkisar antara 26-31°C serta nilai pH-nya antara 7,3-8,4. Keistimewaan *Artemia* sebagai planton adalah memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi dan mempertahankan diri) pada kisaran kadar garam yang sangat luas (Djarjah, 1995).

d. Reproduksi

Menurut cara reproduksinya, *Artemia* dibedakan menjadi dua yaitu *Artemia* yang bersifat biseksual dan *Artemia* yang bersifat partenogenik. Keduanya mempunyai cara berkembangbiak yang berlainan. *Artemia* biseksual berkembangbiak secara seksual yaitu perkembangbiakannya didahului dengan perkawinan antara jantan dan betina. Sedangkan *Artemia* partenogenetik berkembangbiak secara partenogenesis yaitu betina menghasilkan telur atau *nauplius* tanpa adanya pembuahan (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995).

8. Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Brine Shrimp Lethality Test (BST) merupakan suatu metode yang umum untuk mendeteksi berbagai substansi aktif yang terdapat dalam tanaman. Metode

ini telah diaplikasikan sejak tahun 1982 (Meyer *et al.*, 1982 *cit* Khan *et al.*, 2008). Metode ini dapat digunakan sebagai skrining awal yang baik untuk mengetahui adanya toksisitas, toksin dari suatu mikroba, pestisida, dan aktivitas antitumor (Manilal *et al.*, 2009).

Pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman tentunya lebih tepat bila menerapkan suatu metode yang cukup praktis, cepat, mudah, dan murah dengan tidak mengesampingkan keakuratannya. Meyer *et al.*, 1982 *cit* wahyuni (2003) melaporkan metode uji untuk menentukan suatu senyawa dari bahan alam dengan cepat dan murah sebagai penapisan ekstrak tanaman aktif yaitu menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach.

Artemia dapat dipergunakan untuk menentukan aktivitas suatu bahan secara kuantitatif yang dinyatakan dengan *Median Lethal Concentration* atau LC_{50} . Nilai LC_{50} merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi suatu bahan yang menyebabkan kematian sebesar 50% dari jumlah hewan uji. Metode BST diterapkan dengan menentukan nilai LC_{50} setelah perlakuan 24 jam (Loomis, 1978).

9. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. Dalam metode ini, lapisan yang memisahkan terdiri dari bahan yang berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang sesuai. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan sebagai bercak atau pita. Pelat diletakkan di dalam bejana tertutup rapat berisi larutan

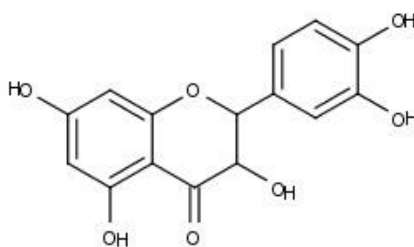
pengembang yang sesuai (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (proses elusi) (Stahl, 1985).

Hasil KLT ditentukan oleh fase diam (penyerap), fase gerak (pelarut), dan teknik kerja. Kondisi awal keberhasilan metode ini ditentukan oleh fase diam, fase gerak, bejana pemisah, cuplikan, cara dan jumlah penotolan, pembuatan cuplikan, dan deteksi senyawa yang dipisahkan (Harborne, 1996).

E. Landasan Teori

Secara umum, benalu dengan famili Loranthaceae (contohnya *Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) dan *Viscaceae* mengandung banyak flavonoid, seperti *chalcones*, *flavanones*, *c-glycoflavonols* dan *flavan-3-ols*. Flavonoid berfungsi sebagai pelindung tanaman benalu dari kerusakan yang disebabkan oleh pengaruh sinar ultraviolet dan bertanggung jawab pada warna bunga, buah, dan daun. Kandungan kimia benalu mangga antara lain flavonoid kuersetin, meso-inositol, rutin, dan tanin. Kuersetin merupakan suatu senyawa flavonol glikosida yang merupakan marker taksonomi dari famili Loranthaceae (Ikawati *et al.*, 2008). Dari hasil penelitian, diketahui bahwa isolat benalu mangga mengandung golongan steroid (β -sitosterol) dan flavonoid (kuersetin) (Katrin *et al.*, 2005). Fatma (2008) mengemukakan bahwa kuersetin beserta produk oksidasinya memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan zona hambat yang terjadi setelah inkubasi selama 24 jam.

Kuersetin memiliki aktivitas antibakteri yang baik karena adanya gugus fenol dengan mekanisme kerja mengkoagulasi protein dengan menonaktifkan enzim-enzim dan mengganggu dinding sel sehingga memiliki sifat bakterisida yang baik (Katzung, 2004). Sedangkan menurut Pelczar dan Chan (1988), kuersetin memiliki aktivitas sebagai antibakteri karena dapat mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel bakteri. Mekanisme kuersetin sebagai antibakteri berhubungan dengan pembentukan ikatan kompleks dengan protein pada membran (protein-fenol) sehingga menyebabkan permeabilitasnya turun. Ikatan kompleks yang telah terbentuk kemudian terurai dan berpenetrasi ke dalam sel sehingga terjadi koagulasi protein dan menyebabkan enzim bakteri tidak aktif. Akibatnya dinding sel bakteri tidak terbentuk dengan baik sehingga terjadi kebocoran sel dan bakteri mati. Struktur kimia kuersetin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Kimia Kuersetin.

Dari hasil penelitian, ekstrak etanol *Loranthus micranthus* yang memiliki kesamaan famili (Loranthaceae) dengan benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* (Osadebe dan Akabogu, 2005).

F. Hipotesis

Fraksi semipolar ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.